

**Untersuchungen über die Genetik
der unterschiedlichen Aktivität der
menschlichen Serum-Paraoxonase
an zwei Großfamilien**

Vorgelegt

von

Hans-Georg Dietrich

aus

Waldfishbach



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Untersuchungen über die Genetik
der unterschiedlichen Aktivität der
menschlichen Serum-Paraoxonase
an zwei Großfamilien

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Hans-Georg Dietrich
aus Waldfischbach

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten

Referent: Prof. Dr.Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 03.03.1980

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Überblick über die bisherigen Kenntnisse von der menschlichen Serum-Paraoxonase	2
2. Problemstellung	15
3. Eigene Untersuchungen	16
3.1. Gewinnung des Serums	16
3.2. Versuchstechnik	16
3.2.1. Versuchsanordnung	16
3.2.2. Versuchsdurchführung	18
3.2.2.1. Inkubation mit E 600	18
3.2.2.2. Messung der Cholinesterase-Aktivität	20
3.2.2.3. Berechnen der Cholinesterase-Restaktivität	20
3.3. Versuchsergebnisse	22
4. Diskussion und Zusammenfassung	32
5. Literaturverzeichnis	35

1. ÜBERBLICK ÜBER DIE BISHERIGEN KENNTNISSE VON DER MENSCHLICHEN SERUM-PARAOXONASE

Den Gerichtsmediziner interessieren die Schädlingsbekämpfungsmittel aus der Gruppe der organischen Phosphorsäureester (Alkylphosphate), insbesondere das 1944 von Schrader entwickelte Parathion oder E 605 (0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)-thiophosphat), da diese Pflanzenschutzmittel auch für den Menschen sehr toxisch sind. Die häufige Nutzung von E 605 führte wegen unsachgemäßer Anwendung oft zu Vergiftungsfällen. E 605 wurde auch in suicidalen Absicht eingenommen oder diente als Mordgift.

Die stark toxische Wirkung der Alkylphosphate beruht auf der Blockierung der Cholinesterasen im Zentralnervensystem, an den neuromuskulären Endplatten, in den Drüsen und den Erythrocyten. Dementsprechend zeigen sich auch die Vergiftungserscheinungen der sog. endogenen Acetylcholinvergiftung: Muskelschwäche, fibrilläre Zuckungen, tonisch-klonische Krämpfe infolge Acetylcholinanreicherung an der motorischen Endplatte; Brachykardie, Miosis, Tränenfluß, Schweißausbruch, Erbrechen, Durchfall, Lungenödem infolge Acetylcholinanreicherung an den postganglionären cholinergischen Nervenendigungen der glatten Muskulatur; außerdem, zentralnervös bedingt: Angst, Kopfschmerzen, Krämpfe, Koma.

Eine Zusammenfassung über die Toxikologie der insektiziden Phosphorsäureester erstellten 1968 Kimmerle und Lorke.

Inzwischen ist der Stoffwechsel von E 605 von Neal (1967) gut untersucht worden. Er findet zu einem erheblichen Teil in der Leber statt. Dabei wird E 605 zu E 600 (= Paraoxon bzw. 0,0-Diäthyl-0-(p-nitrophenyl)-phosphat) oxydiert, welches das eigentliche Enzymgift darstellt. Es liegt also eine Giftung anstelle einer Entgiftung im Stoffwechsel vor (s. Abb. 1).

Stoffwechsel von PARATHION im Warmblüter

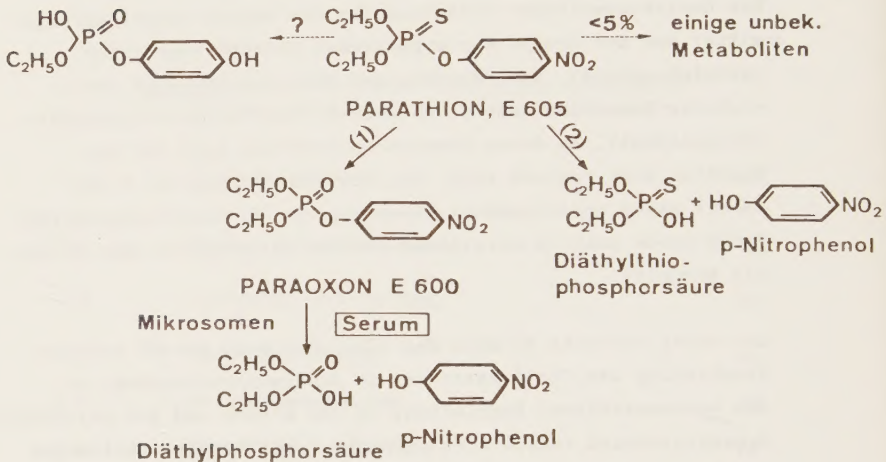


Abb. 1: Stoffwechsel von Parathion im Warmblüter nach Neal (1967).

Friedberg und Sakai wiesen 1958 darauf hin, daß der Nachweis der Blockierung der Cholinesterase ein Maß für die E 600-Vergiftung sei. Dies gelang ihnen in verschiedenen Versuchen durch Messung und Vergleich der Cholinesterase-Aktivität im Gewebe oder im Blut von vergifteten Tieren vor und nach Zusatz eines fermentreaktivierenden Antidots (PAM). Die Brauchbarkeit dieser Methode für die gerichtsmedizinische Praxis zeigten sie an 12 durch E 605 verursachten Todesfällen.

Jedoch wurden viele für forensische Zwecke wichtige Versuchsergebnisse von Friedberg und Sakai (1958) und auch von Friedberg und Erdmann (1959) nur an Tierseren gewonnen. Deshalb stellten Geldmacher-v.Mallinckrodt und Lindorf (1969) sowie Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) an menschlichen Seren ähnliche und weiterführende Ermittlungen an. Um die geeigneten

Giftkonzentrationen für ihre Versuchsanordnung herauszufinden, orientierten sie sich an sogenannten I_{50} -Werten für E 600 und Serumcholinesterasen aus der Literatur (siehe Tabelle 1); der I_{50} -Wert ist ein Maß für die Toxizität von E 600 und gibt die molare Konzentration des Giftes an, die die Aktivität von Cholinesterasen auf die Hälfte erniedrigt.

Tabelle 1:

I_{50} -Werte für Serumcholinesterasen verschiedener Herkunft (aus der Literatur)

Herkunft d. Serums	I_{50} -Werte	Autor
?	1,4 x 10^{-7}	Schrader (1963)
Pferd	1,4 x 10^{-7}	Heath (1961)
Ratte	2,63 x 10^{-8}	Heath (1961)
?	1,26 x 10^{-7}	Heath (1961)
Mensch	0,87 x 10^{-8}	Rosival u. Mitarbeiter (1959)

Bei Untersuchungen zur Sicherung dieses Wertes für menschliches Serum fanden sie nach Inkubation mit einer E 600-Konzentration von $1,6 \times 10^{-7}$ Mol/l über 1 Std. bei 37°C in allen Fällen eine völlige Vergiftung der Acetylcholin spaltenden Serumfermente. Bei Inkubation von 50 Seren (29♂, 21♀) mit E 600 in einer Konzentration von $3,2 \times 10^{-8}$ Mol/l dagegen waren durch die unterschiedliche verbleibende Restaktivität drei gut abgegrenzte Gruppen zu erkennen, wobei die gemessene Restaktivität unabhängig war von der Ausgangsaktivität: eine Gruppe mit niedriger (Gruppe I), eine mit mittlerer (Gruppe II) und eine mit hoher Restaktivität (Gruppe III) (Vgl. Tab. 2).

Tabelle 2:

Normalaktivität und Restaktivität nach Vergiftung von 50 menschlichen Serumproben mit E 600 ($c = 3,2 \times 10^{-8}$ molar) sowie Aufteilung der Seren in drei Gruppen (nach Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969))

Gruppe	Personen n	Restaktivität nach Vergiftung in % der Normalaktivität
I	30	0 - 5,5
II	10	13 - 20,5
III	10	29 - 48

Diesen drei Gruppen unterschiedlicher Serumcholinesterase-Restaktivität konnten entsprechende I_{50} -Werte zugeordnet werden

Tabelle 3:

Gruppe	I_{50} -Wert
I	$1,6 \times 10^{-8}$
II	$2,0 \times 10^{-8}$
III	$2,6 \times 10^{-8}$

Den von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) gefundenen Unterschieden in der Vergiftbarkeit menschlicher Serumcholinesterasen mit dem Alkylphosphat E 600 konnten theoretisch drei Ursachen zugrunde liegen:

entweder

1. ein Polymorphismus der Serumcholinesterasen

oder, wie Geldmacher-v.Mallinckrodt und Lindorf (1969) vermuteten,

2. ein Polymorphismus einer Aktivität, die E 600 spaltet und damit die E 600-Konzentrationen so variiert, daß unterschiedliche Restaktivitäten der Cholinesterasen verbleiben, wobei diese selbst keinen Polymorphismus aufweisen

oder auch

3. ein Polymorphismus beider Fermentsysteme gemeinsam.

Für die erstgenannte mögliche Ursache sprachen schon fünf andere bekannte genetische Varianten der menschlichen Serumcholinesterasen (siehe Goedde, Doenicke und Altland (1967)).

In der Meinung, daß ein Polymorphismus einer Phosphotriesteraseaktivität ursächlich sei, konnte man durch andere Untersuchungen bestärkt werden:

Aldridge (1953a, 1953b) fand als erster im Serum verschiedener Tierarten und des Menschen ein E 600 spaltendes Enzym (jetzige Bezeichnung: Arylesterase, Paraoxonase (EC 3.1.1.2)).

Weitere Forschungsarbeit über dieses Enzym wurde geleistet von:

Augustinsson und Heimbürger (1954/55/57)

Mounter (1954)

Friedberg und Erdmann (1959)

Main (1960)

Schaumann und Schiller (1960)

Erdös und Boggs (1961)

Skrinjaric-Spoljar und Reiner (1968)

Auch Krisch hat 1968 mit einem spektrophotometrischen Verfahren gezeigt, daß ein menschliches Serumferment bei pH 11,2 (Wirkungsoptimum) und 25°C aus Paraoxon in einer Konzentration von 10^{-4} Mol/l fermentativ p-Nitrophenol abspaltet, das durch die Zunahme der Extinktion bei 405 nm sehr einfach quantitativ bestimmt werden kann. Bei Untersuchungen an Seren von je 25 Männern und Frauen konnte er zwei sich überlagernde Gruppen erkennen, die sich durch die Höhe der Esteraseaktivität unterschieden.

Daß tatsächlich ein Polymorphismus der Arylesterase-Aktivität, für die von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) gefundenen drei Gruppen unterschiedlicher Vergiftbarkeit der Serumcholinesterase mit E 600 ursächlich ist, konnten Geldmacher-v.Mallinckrodt, Baumgartner, Pétényi, Burgis, Lindorf und Metzner (1972) belegen. Bei 50 Probanden mit bereits bekannter Cholinesterase-Restaktivität, festgestellt in der Versuchsanordnung von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) (Anti-ChE-Technik: $C_{E\ 600} = 3,2 \times 10^{-8}$ Mol/l; pH = 7,7; Inkubation: 60 min. bei 37°C; Warburg-Apparatur; Substrat: Acetylcholin), wurde die Aktivität der Arylesterase nun nach der spektrophotometrischen Methode von Krisch gemessen. Bei der Auswertung wurde eine hochsignifikante Korrelation ($r = + 0,82$) deutlich: Eine hohe Cholinesterase-Restaktivität entspricht einer hohen Arylesterase-aktivität.

Inzwischen hatte auch Zürcher (1971) bei der Untersuchung von 619 menschlichen Serumproben mit einer spektrophotometrischen Methode (5×10^{-3} Mol/l Paraoxon in 0,1 Mol/l Triäthanolaminpuffer, pH 7,31, und 0,001 Mol/l $CaCl_2$; 25°C) einen Polymorphismus des Paraoxon hydrolysierenden Enzyms im menschlichen Serum gefunden.

Weitere Untersuchungen von Geldmacher-v.Mallinckrodt et al (1973) ergaben, daß es sich bei der E 600 spaltenden Aktivität (Paraoxonase) im menschlichen Serum um ein sehr spezifisches Enzym handelt, das schon auf geringfügige Veränderungen am Substratmolekül reagiert.

Für ihre Nachforschungen verwendeten Geldmacher-v.Malinckrodt et al den für die Paraoxonspaltung gesicherten Polymorphismus als neues Kriterium. Mit Hilfe der oben kurz erklärten Krisch'schen Methode wurden Seren von je 30 gesunden Erwachsenen (Zufallsauswahl, Blutspender der Erlanger Blutbank) vergleichend einmal mit Paraoxon, sodann mit der zu prüfenden Verbindung als Substrat (bei gleicher molarer Substratkonzentration) auf ihre hydrolytische Aktivität untersucht und der Korrelationskoeffizient bestimmt.

Methyl-Paraoxon z.B. wird in der gleichen Weise gespalten wie Paraoxon: die Aktivitäten sind identisch, der Polymorphismus bleibt erhalten ($r = 0,965$). Bei der Spaltung von Chlor-Methyl-Paraoxon ist der Polymorphismus noch erkennbar, der Aktivitätsbereich jedoch eingeschränkt ($r = 0,90$). Nicht gespalten werden dagegen die entsprechenden Thiophosphate Parathion, Methyl-Parathion und Chlorthion, Paraoxonderivate mit der Nitrogruppe in o- oder m-Position, sowie die einfach und doppelt desalkylierten Paraoxonderivate. Für die Hydrolyse von n-Propyl-Paraoxon ist wahrscheinlich ein anderes Enzym verantwortlich.

Geldmacher-v.Mallinckrodt, Pétényi, Burgis, Dietzel, Metzner, Nirschel und Renner (1973) haben aufgrund ihrer Ergebnisse und der somit gefundenen Spezifität der menschlichen Serum-Paraoxonase vorgeschlagen, die Definition des Enzyms EC 3.1.1.2 Arylester-Hydrolase bzw. Arylesterase der bis jetzt noch gültigen Nomenklatur der Enzymkommission 1964 zu revidieren (der Name "Paraoxonase" findet sich dort hingegen als nicht empfohlene Bezeichnung). In dieser Definition wird EC 3.1.1.2 als äußerst unspezifisches Enzym dargestellt.

Nachdem die Spezifität der menschlichen Serum-Paraoxonase nachgewiesen war, konnte man nun darangehen, Untersuchungen über die Genetik dieses Enzyms anzustellen. Denn Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf hatten schon 1969 eine genetische Ursache für die damals gefundenen drei Gruppen verschiedener Vergiftbarkeit der Serumcholinesterase mit E 600 vermutet. Auch Krisch (1968) schloß eine genetische Ursache für die von ihm gefundenen unterschiedlichen Aktivitäten des E 600-spaltenden Ferments nicht aus.

Ein gewisser Widerspruch bestand jedoch darin, daß Krisch (1968) lediglich zwei sich überlappende Gruppen unterscheiden konnte, während Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) drei sich nicht überlappende Gruppen differenzierten. Die bimodale Verteilung nach Krisch (1968) ließ auf einen dominant-rezessiven Erbgang schließen.

Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) dachten jedoch wegen der von Ihnen gefundenen trimodalen Verteilung an ein intermediäres Prinzip der Vererbung.

Deshalb untersuchten Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf, Pétényi, Flügel, Fischer und Hiller (1973) zunächst 257 Personen nach der Methode von Krisch (1968); dieser hatte nur mit 50 Seren gearbeitet. Bei diesem größeren Kollektiv konnten nunmehr auch drei Gruppen mit unterschiedlicher Aktivität abgegrenzt werden, wobei die Mittelwerte der Aktivitäten der einzelnen Gruppen sich mit 99%-iger Wahrscheinlichkeit signifikant unterschieden (t-Test). Eine sichere Zuordnung war aber wie bei Krisch (1968) in den Grenzbereichen nicht möglich. Bei 192 anschließend mit der Anti-ChE-Technik untersuchten Personen wurde eine Aufteilung in drei gut getrennte Gruppen mit unterschiedlicher Serumcholinesterase-Restaktivität mit 99,9%-iger Wahrscheinlichkeit signifikant gesichert (t-Test). Eine Überlappung der Gruppen war nicht zu finden. Die Anti-ChE-Technik schien daher geeigneter, ein individuelles Serum einer der drei Gruppen zuzuordnen.

Daraufhin wurden 35 Familien mit insgesamt 52 Kindern mit der Anti-ChE-Technik untersucht. Die Ergebnisse lassen sich durch ein einfaches 2-Allele-System deuten. Obwohl zur Zeit noch ungeklärt ist, ob die Aktivitätsunterschiede durch quantitative Unterschiede des gleichen Enzymproteins oder durch das Vorliegen verschiedener Enzymproteine bedingt sind und bei etwaigen qualitativen Unterschieden über die jeweilige elektrophoretische Beweglichkeit noch keine Aussage gemacht werden kann (siehe IUPAC-IUB-Empfehlungen, 1971), wählten Geldmacher-v.Mallinckrodt et al (1973) zur einfachen Darstellung ihrer Ergebnisse die folgenden Bezeichnungen:

Tabelle 4:

Gewählte Bezeichnungen für die Paraoxonasetypen

Serumcholin- esterase- Restaktivität (Anti-ChE-Technik)	Serum- Paraoxonase- Aktivität	Paraoxonasetyp	
		früherer Name	neuer Name : (Genkombination)
niedrig	niedrig	Gruppe I	1 - 1
mittel	mittel	Gruppe II	2 - 1
hoch	hoch	Gruppe III	2 - 2

(Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf, Pétényi, Flügel,
Fischer, Hiller (1973))

Die neuen Namen der drei Gruppen leiten sich ab von der Annahme, daß es sich um ein intermediäres Vererbungsprinzip handelt. Demnach liegen der unterschiedlichen Paraoxonase-Aktivität zwei genetisch gleichwertige Gene zugrunde:

	Bezeichnung
Ein Gen für niedrige Paraoxonase- Aktivität:	"1"
Ein Gen für hohe Paraoxonase- Aktivität:	"2"

Kombiniert man diese beiden Allele, so ergeben sich entsprechend den drei Gruppen der Paraoxonase-Aktivität die drei Paarungsmöglichkeiten "1-1", "2-1" und "2-2".

Die Ergebnisse der Familienuntersuchungen sind in Tabelle 5 wiedergegeben. Sie widersprechen in keinem Fall dem angenommenen Modell und machen es wahrscheinlich, daß der Polymorphismus der menschlichen Serum-Paraoxonase genetisch determiniert ist.

Tabelle 5:

Serum-Paraoxonasetypen bei 35 Familien mit 52 Kindern
(Anti-ChE-Technik)

Eltern		Kinder		
Paarungen	Familien	Typ		
		1 - 1	2 - 1	2 - 2
	n	n	n	n
1-1 X 1-1	12	13	-	-
1-1 X 2-1	11	9	8	-
1-1 X 2-2	2	-	3	-
2-1 X 2-1	4	3	3	1
2-1 X 2-2	4	-	5	4
2-2 X 2-2	2	-	-	3
	35	25	19	8

(Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf, Pétényi, Fischer,
Hiller (1973))

Nachdem 35 Familien von Geldmacher-v.Mallinckrodt und Mitarbeitern (1973) untersucht waren, stellten auch Bartel (1977), Behringer (1976), Eckstein (1976) und Gebhard (1976) Untersuchungen an, um den genetisch determinierten Polymorphismus der menschlichen Serum-Paraoxonase weiter zu klären. Während Geldmacher-v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) und später Geldmacher-v. Mallinckrodt, Lindorf, Pétényi, Flügel, Fischer und Hiller (1973) die Grenzen der drei Gruppen unterschiedlicher Cholinesterase-Restaktivität nach der Anti-ChE-Technik nur anhand einer Anzahl von zufällig ausgewählten Seren festlegten, hat Ortlieb (1976) unter Berücksichtigung genetischer Gesichtspunkte die Gruppen-grenzen revidiert.

Als neue Grenzen ergaben sich:

Gruppe	Cholinesterase - Restaktivität in %		
	niedrigster Wert	höchster Wert	Standardabweichung
1 - 1	0,0	6,6	+ 1,01
2 - 1	7,4	30,6	+ 2,29
2 - 2	35,5	66,6	+ 4,79

(Ortlieb (1976))

J.R. Playfer, L.C. Eze, M.F. Bullen und D.A.P. Evans haben 1976 mit einer Auto-Analyser-Methode Serum von britischen, chinesischen, indischen, malaiischen und afrikanischen Probanden untersucht. Bei ihrer Methode wurde Paraoxon bei 37°C hydrolytisch gespalten. Jede Serumprobe wurde mit Substrat in TRIS-HCl-Puffer mit einem pH 7,7 und Glycin-Puffer mit einem pH 10,5 gemischt. Die Inkubationszeit betrug 15 Minuten. Die Paraoxonaseaktivität wurde photometrisch bestimmt und ausgedrückt in $\mu\text{mol PNP/l}$ (p-Nitrophenol pro Liter), die unter den angegebenen Bedingungen durch Hydrolyse entstanden. Playfer et al (1976) glaubten, bei den britischen Probanden und auch bei den indischen zwei Gruppen von Enzymaktivität feststellen zu können. Bei den afrikanischen, malaiischen und chinesischen Probanden konnten sie keine verschiedenartigen Gruppen erkennen.

Anhand der von ihnen angegebenen Abbildungen (siehe Abb. 2) kann jedoch auch eine trimodale Verteilung der Enzymaktivität bei den untersuchten Briten angenommen werden, wenn man bedenkt, daß die Gruppe mit der hohen Paraoxonaseaktivität auch bei den bisherigen Untersuchungen im Institut für Gerichtsmedizin an der Erlanger Universität sehr klein war, was die Probandenzahl anbetrifft.

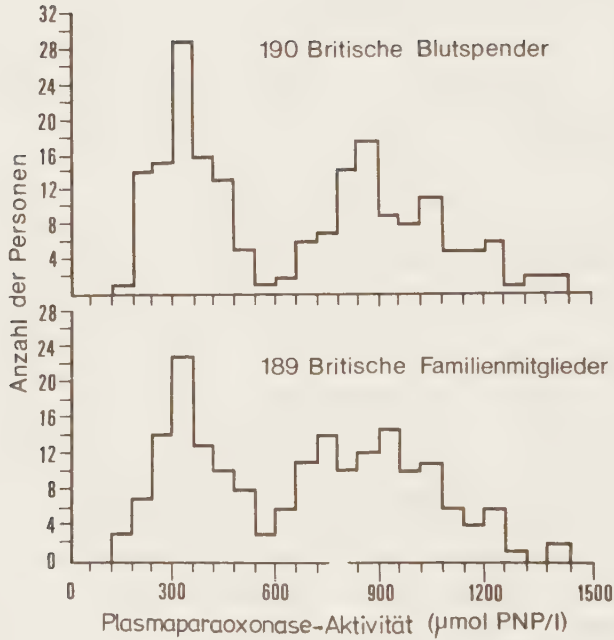


Abb. 2: Verteilung der von Playfer et al (1976) untersuchten britischen Personen bezüglich ihrer Serum-Paraoxonase-aktivität.

Inzwischen hat Dumbach (1977) Untersuchungsergebnisse von 601 Einzelpersonen und 99 Familien mit 180 Kindern statistisch ausgewertet. Auch mit statistischer Methode wurde die Einteilung in drei Gruppen der Cholinesterase-Restaktivität bestätigt. Allerdings kann nicht mehr von drei sich nicht überlappenden Gruppen gesprochen werden, wie dies nach den bisherigen Untersuchungen an verhältnismäßig kleinen Untersuchungskollektiven angenommen wurde. Nach Dumbach (1977) erscheint es deshalb sinnvoller, wegen der sich überschneidenden Bereiche Wahrscheinlichkeitsaussagen bezüglich der Zuordnung zu den drei Paraoxonasetypen zu machen. Dumbach (1977) gibt die Wahrscheinlichkeit der Zugehörigkeit zu den drei Gruppen an, indem er für individuelle Werte der Cholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit Paraoxon ($3,2 \times 10^{-8} \text{ M}$) das von Hommel (1976) angegebene Trennungsverfahren von Mischverteilungen durch ein stochastisches Außenkriterium anwendet. Als stochastisches Außenkriterium dient ihm die Konstellation der Cholinesterase-Restaktivitäts-Werte aus den bisherigen Familienuntersuchungen zur Genetik der menschlichen Serum-Paraoxonase am Institut für Rechtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg, die immer auf eine Vererbung der drei Paraoxonasetypen nach einem einfachen Zwei-Allele-Modell mit intermediärem Erbgang hinwiesen.

2. PROBLEMSTELLUNG

Ziel dieser Arbeit sollte es sein, die Untersuchungen zur Genetik der menschlichen Serum-Paraoxonase fortzuführen, und zwar war es möglich, anhand zweier Großfamilien den Erbgang der Serum-Paraoxonase im Sinne von Stammbäumen zu verfolgen.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Gewinnung des Serums

Es wurde mit einer Venüle jeweils ca. 10 ml Venenblut bei 44 Personen abgenommen, bei 31 Personen der Familie Dietrich und 13 Personen der Familie Schreiner. Möglichst bald nach der Entnahme wurde das Blut 15 Minuten lang bei 1.600 U/min zentrifugiert. Es zeigte sich dabei bei keinem Serum eine Hämolyse, welche nach Lindorf (1971) jedoch bei Verwendung von Butyrylcholinjodid als Substrat wegen der Substratspezifität der Erythrozyten-Cholinesterase gegenüber Acetylcholin auf den Versuch keinerlei Auswirkung gehabt hätte.

Das gewonnene Serum wurde sofort abgetrennt und bei 5°C im Kühlschrank höchstens zwei Tage bis zur Versuchsdurchführung aufbewahrt, obwohl nach Lindorf (1971) die Aufbewahrung bei Raumtemperatur bis zu 8 Tagen und im Kühlschrank bis zu 4 Wochen keinen wesentlichen Einfluß auf die Aktivität der zu untersuchenden Enzyme hat.

3.2. Versuchstechnik

3.2.1. Versuchsanordnung

Die Serumcholinesterase-Aktivität wurde mit einer Warburg-Apparatur Typ V 85 (Abb. 3, Seite 17) der Firma Braun, Melsungen, nach der manometrischen Methode von Ammon (1934) in der Modifikation von Friedberg und Sakai (1958), jedoch bei einem pH-Wert von 7,2 bestimmt. Die Bedingungen der Inkubation wurden auf die nachfolgenden Aktivitätsmessungen anhand von vorausgehenden Probelaufen mit Testseren bekannter Aktivität abgestimmt (Anti-ChE-Technik nach Geldmacher-v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969)).

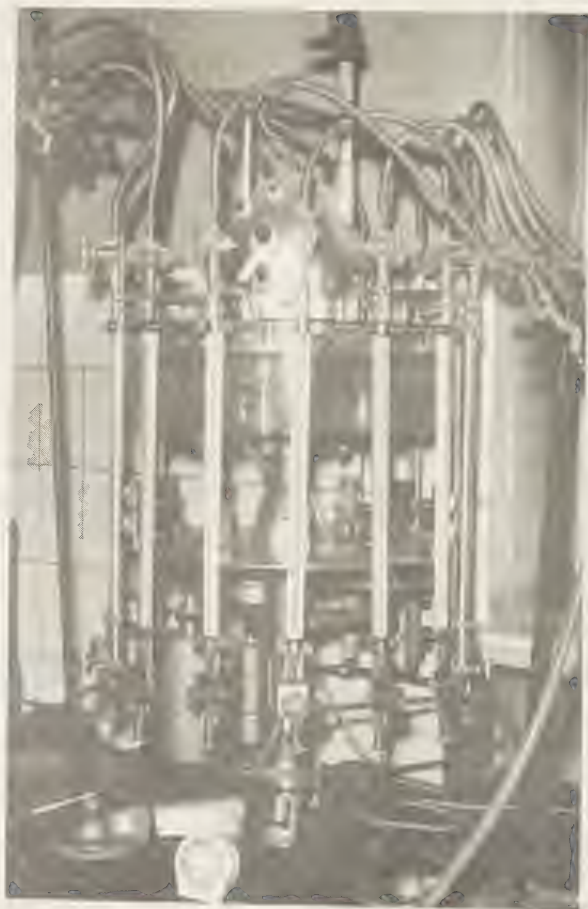


Abb. 3 Warburg-Apparatur Typ V 85 der Firma Braun, Melsungen

3.2.2. Versuchsdurchführung

3.2.2.1. Inkubation mit E 600

- Für die Vergiftung des Ferments wurden $1\mu\text{l}$ E 600 auf 90 ml aqua dest. gegeben und 8 Minuten gut im Erlenmeyerkolben durch Schütteln gelöst bzw. fein emulgiert.
- 10 μl dieser Lösung wurden mit 13,5 ml Verdünnungslösung wiederum 8 Minuten vermischt. (Die Verdünnungslösung war eine Mischung aus 10 Teilen einer 0,9-%igen NaCl-Lösung und 3 Teilen einer 1,26-%igen NaHCO_3 -Lösung.)
- Von den Inkubationsansätzen wurden je 0,5 ml in die Anhangsbirne eines Warburggefäßes gegeben, das im Hauptraum 1,5 ml einer 0,546-%igen wäßrigen Lösung von Butyrylcholinjodid enthielt (Abb. 4, Seite 19). Diese Warburggefäße wurden an ein Manometer angeschlossen und sofort in ein Wasserbad von 37°C gebracht.
- Anschließend wurden alle Manometer mit einem Gasgemisch aus 5 % CO_2 und 95 % N_2 20 Minuten unter Schütteln (Schüttelfrequenz: 100/Min.) begast. Der pH-Wert lag während der Inkubation bei 7,7 (Süllmann (1964)).
- Insgesamt betrug die Inkubationszeit 60 Minuten bei 37°C .



Abb. 41 Warburggefäß mit Hauptraum und Anhangsbirne

3.2.2.2. Messung der Cholinesterase-Aktivität

- Nach Beendigung der Inkubation wurde die Serumverdünnung in den Anhangsbirnen in den Hauptraum der Warburggefäße gekippt. Der pH-Wert lag nun bei 7,2 (Süllmann (1964)).
- Bei noch geöffneten Manometerhähnen wurde abermals 3 Minuten lang geschüttelt, danach die Manometervordifferenz abgelesen und das System geschlossen.
- Nach 15 und 30 Minuten wurde der Manometerstand notiert. Während dieser 30 Minuten blieb die Schüttelautomatik mit Ausnahme des kurzen Ablesevorgangs in Betrieb.

Die Seren wurden in Doppelbestimmungen mit und ohne E 600 auf ihre Aktivität getestet, es liefen also bei jedem Versuchsablauf zwei vergiftete und zwei unvergiftete Ansätze von jedem Serum mit. Zur Kontrolle der Eigenhydrolyse des Substrats dienten zwei Leerwerte, bei denen die Anhangsbirne der Warburggefäße 0,5 ml Verdünnungslösung, der Hauptraum 1,5 ml Butyrylcholinjodid-Lösung enthielt.

Da 14 Manometer zur Verfügung standen, konnten in einem Versuchsablauf außer den beiden Leerwerten drei verschiedene Seren geprüft werden.

Diese Doppelbestimmung wurde in einem zweiten Versuchsablauf wiederholt, so daß von jedem Serum schließlich vier Werte ohne und vier Werte nach Vergiftung vorlagen.

3.2.2.3. Berechnen der Cholinesterase-Restaktivität

Von den 30-Minuten-Werten wurden die vorher notierten Manometervordifferenzen abgezogen und dieser Wert mit der entsprechenden Manometerkonstanten multipliziert. Ebenso wurde der Leerwert errechnet.

Die für jedes einzelne Manometer zu bestimmende Konstante ergibt sich nach Süllmann (1964) aus folgender Formel:

$$K = \frac{V_G \times \frac{273}{T} + V_F a}{P_o}$$

wobei gilt:

V_G = Volumen des Gasraumes

T = Versuchstemperatur

V_F = Volumen der Flüssigkeit

a = Absorptionskoeffizient

P_o = Normaldruck

Nach Bildung des arithmetischen Mittels aus den Wertepaaren der Doppelansätze wurde der Leerwert von diesen Mittelwerten abgezogen.

Die Aktivität wird dabei in $\mu\text{l CO}_2$ pro 30 Minuten, bezogen auf 0,15 ml Serum, angegeben.

Das Verhältnis des ermittelten Wertes nach Vergiftung zum entsprechenden Wert ohne Vergiftung ergibt die Restaktivität in Prozent der Normalaktivität.

Auf gleiche Weise wurde der zweite Versuchsablauf ausgewertet und aus der zweifach bestimmten Restaktivität für jedes Serum wiederum das arithmetische Mittel gebildet.

Die vom Rechner auf vier Stellen nach dem Komma errechneten Restaktivitätswerte wurden auf eine Stelle nach dem Komma gerundet, was der Genauigkeit der Untersuchungsmethode entspricht.

3.3. Versuchsergebnisse

Die ermittelten Cholinesterase-Restaktivitäten der Seren von 44 Personen aus zwei Großfamilien sind in Tabelle 5 wiedergegeben. Die Werte sind den von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) gefundenen Gruppen, in den Gruppengrenzen nach Ortlieb (1976), zugeordnet.

Tabelle 5:

Serumcholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600 in % der Normalaktivität; Einteilung in die drei möglichen Paraoxonase-Aktivitätsgruppen.

Familie	Alter	Restaktivität (%)	Gruppenzuordnung
1. <u>Bangert</u>			
Vater : Helmut	58	1,7	1-1
Mutter: Anni	51	11,2	2-1
Kind : Werner	30	14,2	2-1
Kind : Gretel	27	0,7	1-1
2. <u>Bodscheller</u>			
Vater : Karl-Heinz	45	29,1	2-1
Mutter: Elsbeth	44	3,7	1-1
Kind : Ulrich	17	1,5	1-1
3. <u>Daum</u>			
Vater : Werner	56	26,8	2-1
Mutter: Anneliese	53	0,6	1-1
Kind : Helmut	28	18,7	2-1
Kind : Ursula	24	22,3	2-1
Kind : Anneliese	24	21,7	2-1
Großmutter: Anna, geb.Dietrich (Mutter von Werner Daum)	77	20,0	2-1

Familie	Alter	Restaktivität (%)	Gruppenzuordnung
4. <u>Dietrich</u>			
Vater : Emil	62	25,8	2-1
Mutter: Henny	52	54,6	2-2
Kind : Hans-Georg	28	66,6	2-2
Kind : Klaus	29	17,7	2-1
5. <u>Dietrich</u>			
Vater : Georg	81	39,8	2-2
Mutter: Rosel	81	12,8	2-1
Kind : Karl ¹⁾	55	22,0	2-1
6. <u>Dietrich</u>			
Vater : Julius	73	27,4	2-1
Mutter: Emma	69	24,5	2-1
Kind : Annemarie ²⁾	41	26,9	2-1
Kind : Trudel	31	19,1	2-1
7. <u>Dietrich</u>			
Vater : Karl ¹⁾	55	22,0	2-1
Mutter: Gertrud	50	8,9	2-1
Kind : Werner	22	11,6	2-1
8. <u>Dietrich</u>			
Vater : Karl	78	12,7	2-1
Mutter: Anna	71	0,4	1-1
Kind : Erich	46	5,3	1-1
9. <u>Schreiner</u>			
Vater : Ernst	56	16,7	2-1
Mutter: Marie	55	27,9	2-1
Kind : Gerlinde	27	27,4	2-1

Familie	Alter	Restaktivität (%)	Gruppenzuordnung
10. <u>Schreiner</u>			
Vater : Josef	59	25,7	2-1
Mutter: Elisabeth	57	2,7	1-1
Kind : Evelyn	26	30,6	2-1
Kind : Bärbel	22	26,8	2-1
11. <u>Schreiner</u>			
Vater : Lorenz	58	20,7	2-1
Mutter: Ursula	45	21,5	2-1
Kind : Michael	19	16,2	2-1
12. <u>Schreiner</u>			
Vater : verstorben			
Mutter: Resi	49	17,1	2-1
Kind : Helmuth	26	21,6	2-1
Großmutter: Marie (Mutter von Resi)	88	0,6	1-1
13. <u>Stock</u>			
Vater : Manfred	48	18,9	2-1
Mutter: Annemarie ²⁾	41	26,9	2-1
Kind : Jochen	18	37,6	2-2

1), 2) kommen in zwei Familien vor.

Die Abbildungen 5a, 5b, 5c und die Abbildungen 6a, 6b, 6c erlauben den Vergleich der Versuchsergebnisse innerhalb von Großfamilien, d.h. zwischen mehreren Einzelfamilien, die miteinander verwandt sind. Die Verwandtschaftsbeziehungen in einer Großfamilie sind anhand eines Stammbaums dargestellt.

Abb. 5a Stammbaum der Großfamilie Dietrich mit Angabe der Namen und Geburtsdaten der einzelnen Familienmitglieder.

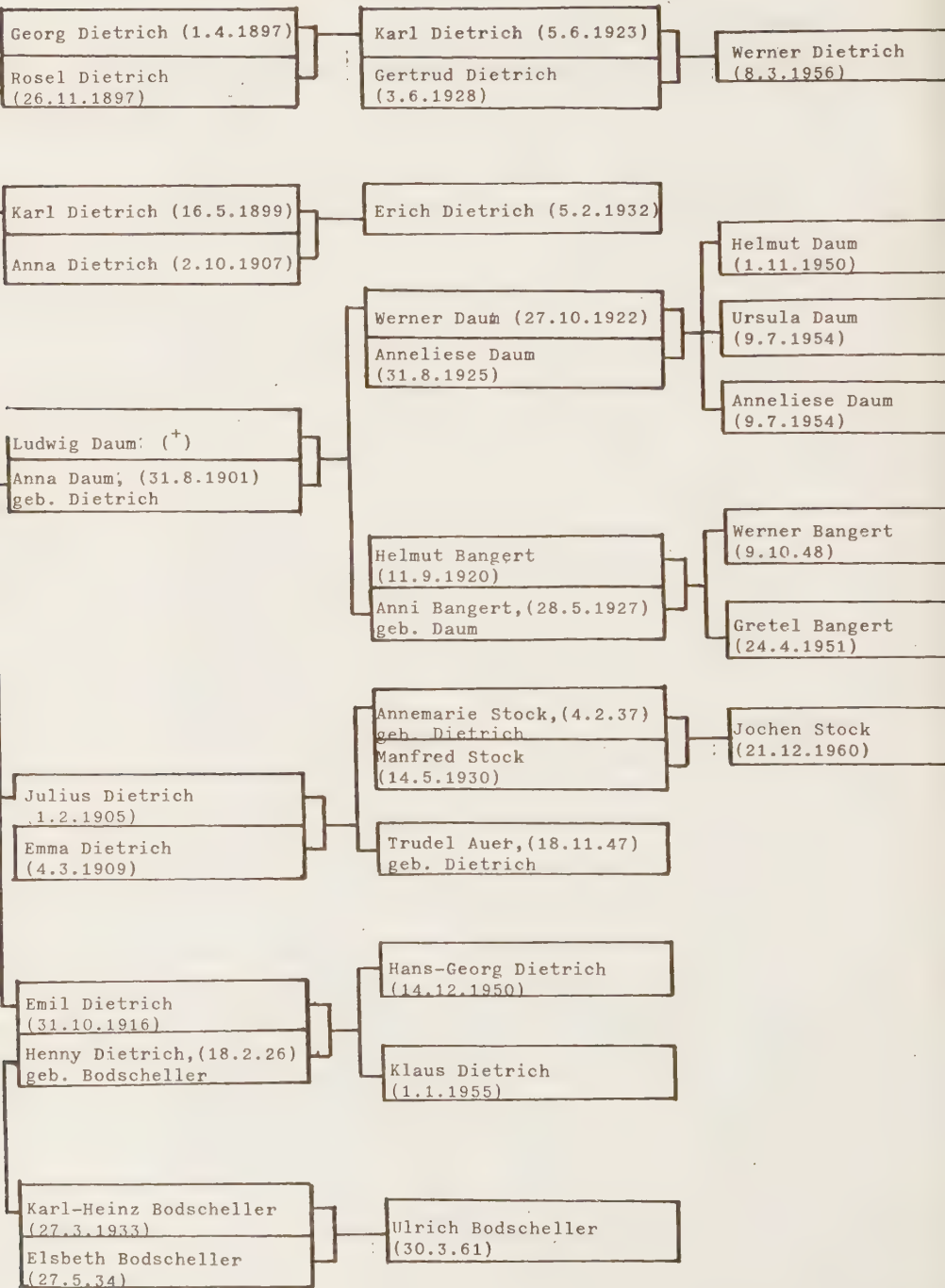
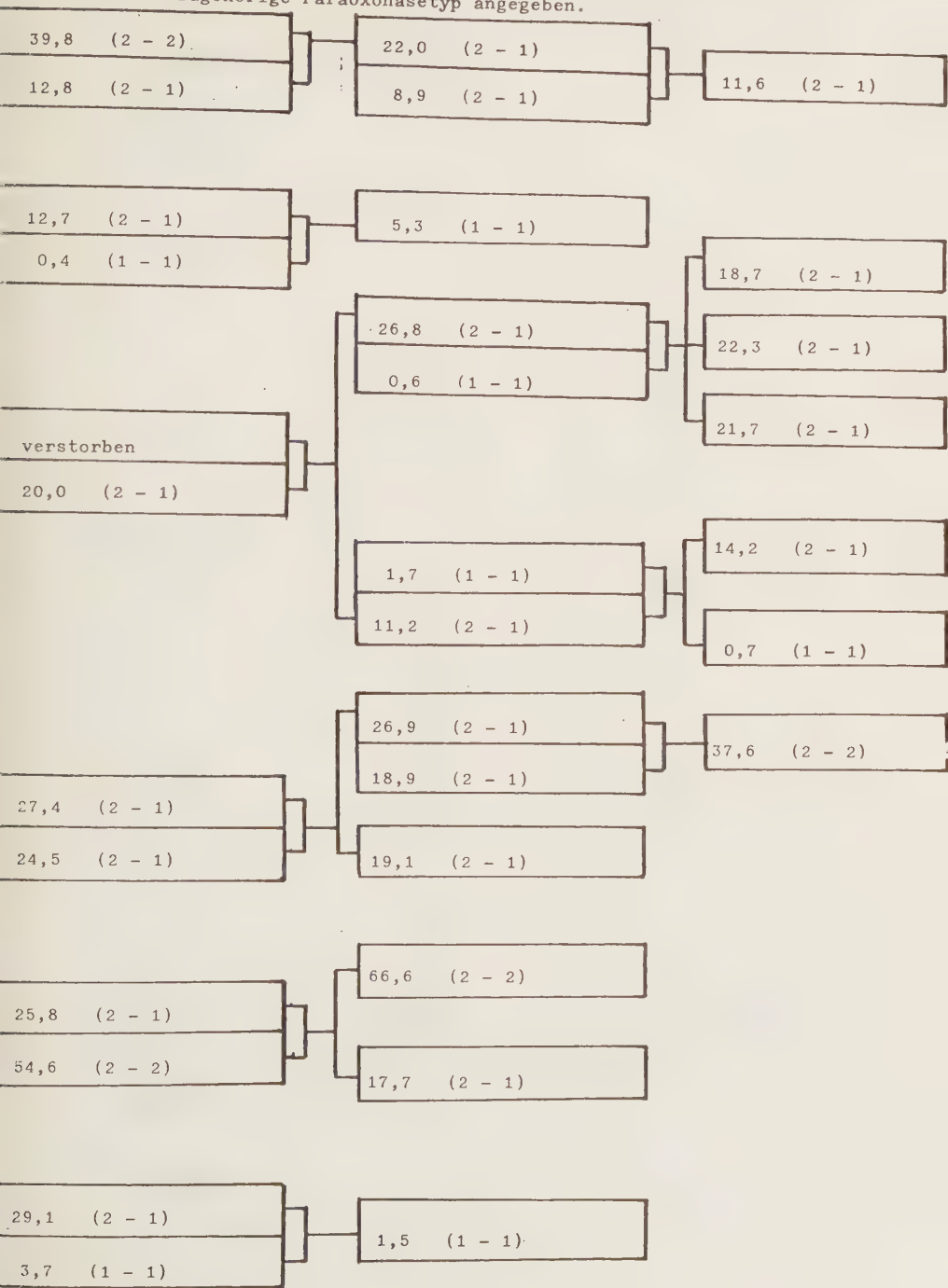
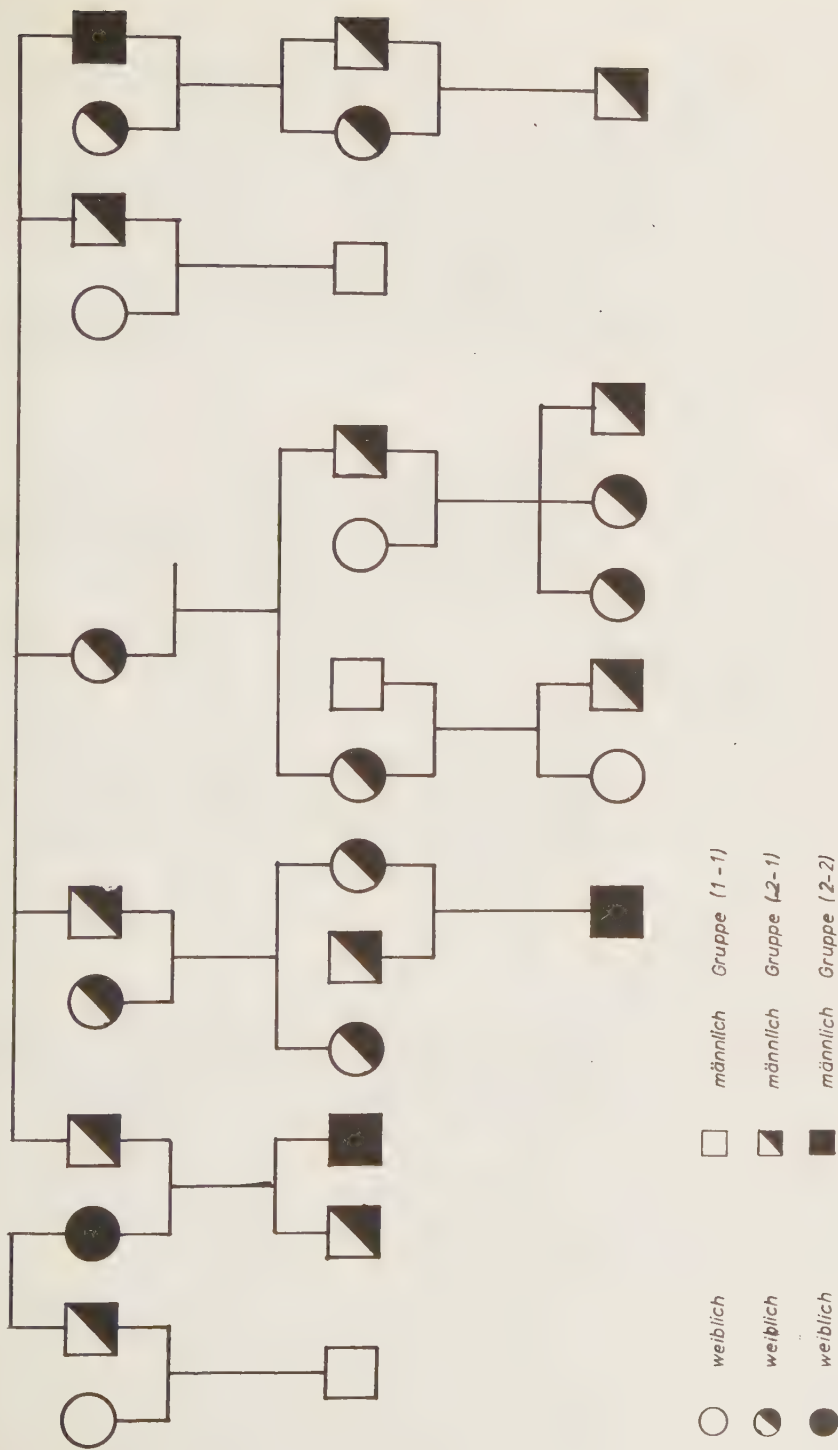


Abb. 5b: In Abbildung 5b sind anstelle der Namen und Geburtsdaten der Familienmitglieder die Cholinesterase-Restaktivität und der zugehörige Paraaxonasetyp angegeben.



Um den Erbgang der drei Paraoxonasetypen besonders zu verdeutlichen zeigt Abb. 5c anstelle der Genkombinationen (2-2); (2-1) und (1-1) entsprechende Symbole jeweils unterschiedlich für das männliche und weibliche Geschlecht.

Abb. 5c: Stammbaum der Großfamilie Dietrich, dargestellt unter Verwendung von Symbolen für die drei möglichen Genkombinationen.



Die Abbildungen 6a, 6b und 6c sind dargestellt wie die Abbildungen 5a, 5b und 5c, jedoch entsprechend als Stammbaum der Großfamilie Schreiner.

Abb. 6a: Stammbaum der Großfamilie Schreiner mit Angabe der Namen und Geburtsdaten der einzelnen Familienmitglieder.

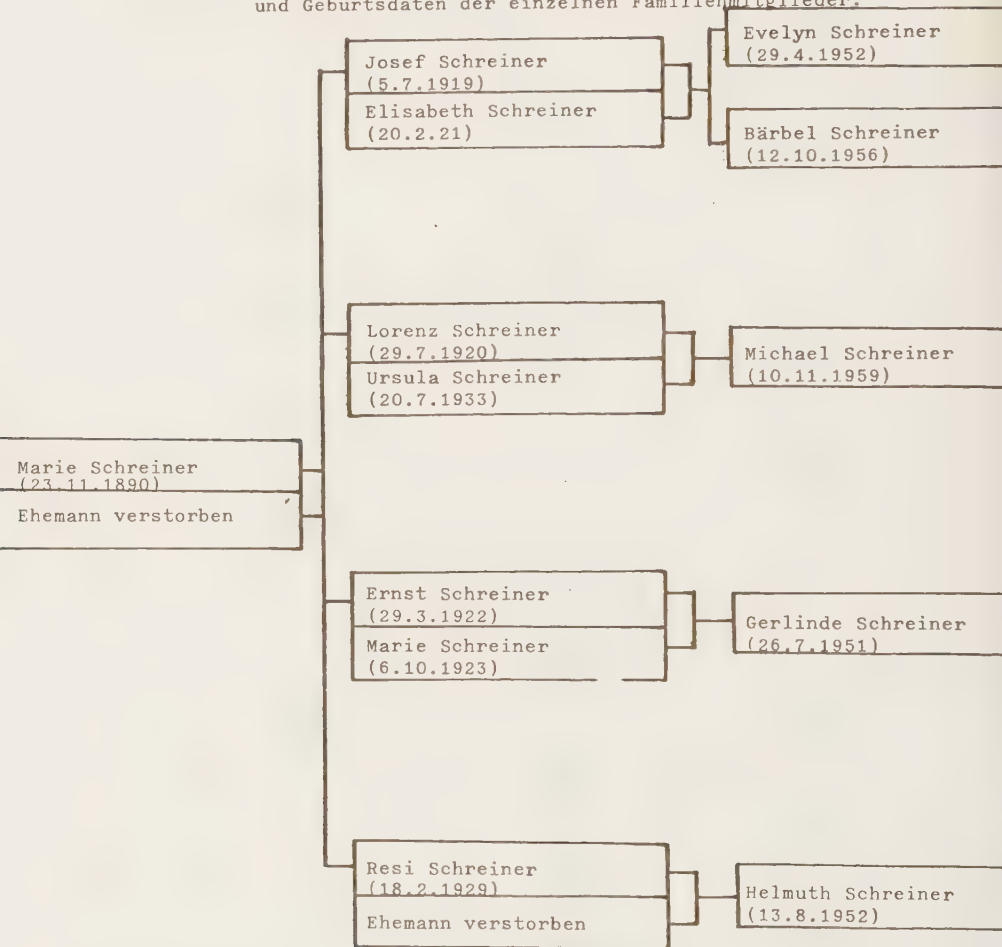


Abb. 6b: Stammbaum der Großfamilie Schreiner mit Darstellung der Cholinesterase-Restaktivität und des zugehörigen Paraoxonasetypes der einzelnen Familienmitglieder.

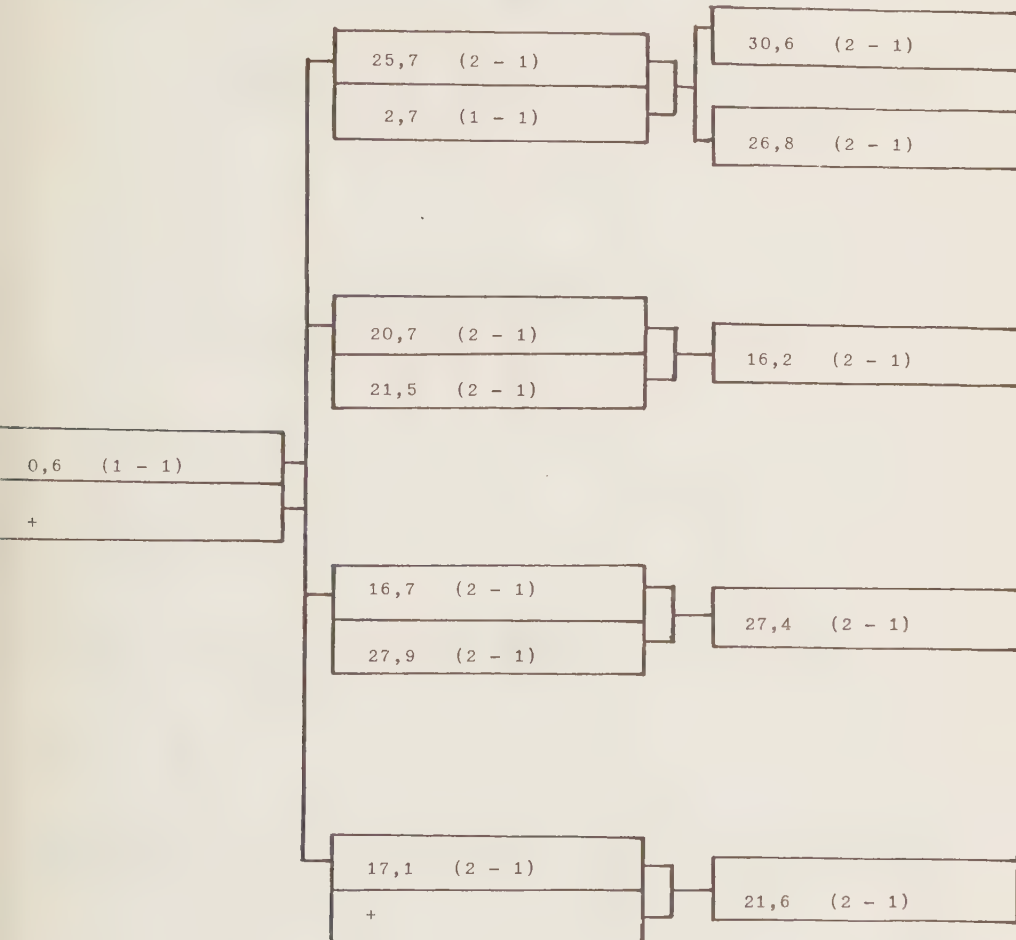
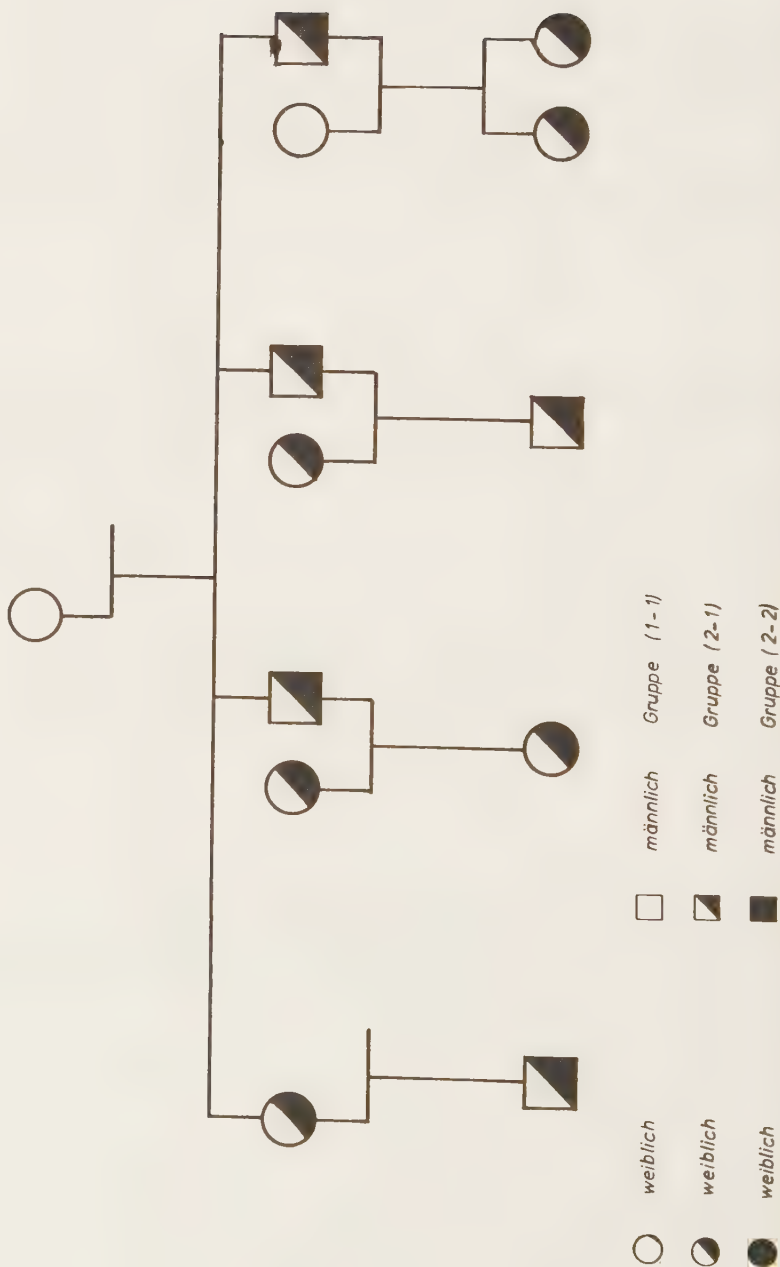


Abb. 5c: Stammbaum der Großfamilie Schreiner, dargestellt unter Verwendung von Symbolen für die drei möglichen Genkombinationen.



4. DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Geldmacher-v.Mallinckrodt und Lindorf vermuteten schon 1969 einen Polymorphismus einer Aktivität, die E 600 spaltet.

Daß es sich bei der Arylesterase-Aktivität um ein ganz spezifisches Enzym handelt, wiesen 1973 Geldmacher-v.Mallinckrodt, Pétényi, Burgis, Dietzel, Metzner, Nirschel und Renner nach. Sie schlugen für dieses Enzym die Bezeichnung "Paraoxonase" vor.

Untersuchungen von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf, Pétényi, Flügel, Fischer und Hiller (1973) zeigten, daß der Polymorphismus der Paraoxonase wahrscheinlich genetisch determiniert ist und einem einfachen 2-Allele-Modell folgt.

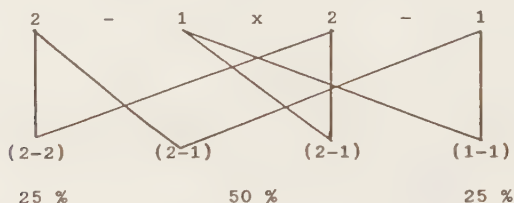
Wie Erfahrungen aus der Humangenetik lehren, können genetische Untersuchungen an Großfamilien meist bessere Ergebnisse liefern als Untersuchungen an Einzelfamilien. In der vorliegenden Arbeit war es möglich, den Erbgang der Serum-Paraoxonase an den Großfamilien Dietrich und Schreiner zu verfolgen.

Die Abbildungen 5a, 5b und 5c für die Großfamilie Dietrich wie auch die Abbildungen 6a, 6b und 6c für die Großfamilie Schreiner erlauben es, den Erbgang der menschlichen Serum-Paraoxonase über drei Generationen zu verfolgen.

Die ermittelten Restaktivitätswerte der Seren beider Großfamilien widersprechen in keinem Stammbaum dem von Geldmacher-v.Mallinckrodt, Lindorf, Pétényi, Flügel, Fischer und Hiller (1973) angenommenen intermediären Erbgang nach einem 2-Allele-Modell.

Bei den fünf Geschwistern Dietrich (1. Generation in den Abb. 5a, 5b und 5c) tritt viermal die Paraoxonase-Aktivität Gruppe (2-1) und einmal Gruppe (2-2) auf. Daraus ist zu schließen, daß ein Elternteil der Gruppe (2-2) und der andere der Gruppe (2-1) oder beide der Gruppe (2-1) angehören mußten.

Das Kind von Georg Dietrich (Gruppe (2-2)) und seiner Frau Rosel (Gruppe (2-1)) gehört der Gruppe (2-1) an. Wahrscheinlicher wäre die Gruppe (2-2) gewesen, da bei Genaufspaltung und Neukombination nach Mendel 75 % der ersten Nachkommengeneration der Gruppe (2-2) und nur 25 % der Gruppe (2-1) angehören. Bei der Paarung der Gene des Kindes Karl Dietrich (Gruppe (2-1)) mit denen seiner Frau Gertrud (Gruppe (2-1)) sind alle drei Gruppen möglich. Folgende Skizze veranschaulicht die möglichen Genkombinationen:



Tatsächlich gehört das Kind Werner Dietrich (3. Generation) der Gruppe (2-1) an.

Untersucht man in diesem Sinne alle Einzelfamilien der Großfamilie Dietrich und die Einzelfamilien untereinander, so bestätigt jeder Cholinesterase-Restaktivitätswert den intermediären Erbgang mit zwei Allelen der Paraoxonase-Aktivität.

Bei der Familie Schreiner (Abb. 6a, 6b und 6c) kann die Frage gestellt werden, welcher Gruppe der verstorbene Großvater zugeordnet werden muß. Da die Großmutter der Gruppe (1-1) zugehört und die Geschwister alle in die Gruppe (2-1) gehören, ist es am wahrscheinlichsten, daß der Großvater ein Vertreter der Gruppe (2-2) war. Es besteht jedoch auch die Möglichkeit, daß er der Gruppe (2-1) angehörte und jedem Kind das Allel "2" vererbt hat.

Eine andere Betrachtungsweise ergibt aus den Abb. 5a und 5b, daß in der Großfamilie Dietrich der Gruppe (2-2) 4 Personen, der Gruppe (2-1) 20 Personen und der Gruppe (1-1) 7 Personen zuzuordnen sind.

Dies entspricht folgender prozentualer Verteilung:

Gruppe (2-2):	12,9 %
Gruppe (2-1):	64,5 %
Gruppe (1-1):	22,6 %

Verglichen mit der Gruppenverteilung der Restaktivitäten der Seren aus bisherigen Untersuchungen, wo mehr als die Hälfte der Seren eine niedrige Paraoxonase-Aktivität aufweisen, während mittlere Aktivitäten weniger häufig und hohe am seltensten auftraten, gibt es in der Großfamilie Dietrich verhältnismäßig viele Seren mit mittleren und hohen Restaktivitäten. Auffallend sind auch die sehr hohen Restaktivitätswerte von Mutter Henny Dietrich (54,6 %) und deren Sohn Hans-Georg Dietrich (66,6%). 66,6 % Restaktivität ist der bisher gefundene höchste Wert.

Die wenigen Seren der Familie Schreiner (Abb. 6a, 6b und 6c) kann man kaum heranziehen, um einen Vergleich bezüglich der Verteilung der auftretenden Gruppen anzustellen. Es treten hier auf: 0 Seren der Gruppe (2-2), 11 Seren der Gruppe (2-1), 2 Seren der Gruppe (1-1).

Wenn auch zusammenfassend gesagt werden kann, daß die vorliegende Arbeit bestätigt, daß zwei genetisch gleichwertige, allele Gene, eines für hohe (Allel "2") und eines für niedrige Aktivität (Allel "1"), der unterschiedlichen Paraoxonase-Aktivität der drei Aktivitätsgruppen zugrunde liegen, so sollten dennoch weiterführende Untersuchungen über die menschliche Serumparaoxonase angestrebt werden. Insbesondere sollten Seren von ausländischen, eventuell vielleicht auch außereuropäischen Volksgruppen untersucht werden, um die Ergebnisse von Playfer et al (1976) an afrikanischen, malaiischen und chinesischen Probanden zu klären, bei denen nicht eindeutig drei Paraoxonase-Aktivitätsgruppen zu erkennen waren.

5. LITERATURVERZEICHNIS

ALDRIDGE, W.N.: Serumesterases. 1. Two types of esterases (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. *Biochem. J.* 53 (1953a) 110.

ALDRIDGE, W.N.: Serumesterases. 2. An enzyme hydrolysing diethyl-p-nitrophenyl phosphate (E 600) and its identity with the A-Esterase of mammalian sera. *Biochem. J.* 53 (1953b) 117.

AMMON, R.: Die fermentative Spaltung des Acetylcholins. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 233 (1934) 486.

AUGUSTINSSON, D.B.; HEIMBÜRGER, B.: Enzymatic hydrolysis of organophosphorus compounds. I - VII *Acta chem. scand.* 8 (1954) 753, 762, 915, 1533; 9 (1955) 310, 383; 11 (1957) 1371.

BARTEL, M.R.A.: Untersuchungen zur Genetik der menschlichen Serum-Paraoxonase an Hand von 11 Familien aus dem norddeutschen Raum. Dissertation, Erlangen (1977).

BEHRINGER, K.O.: Untersuchungen zur Genetik der menschlichen Serum-Paraoxonase an Hand von 11 Familien aus dem Raum Baden-Württemberg. Dissertation, Erlangen (1976).

DUMBACH, J.: Statistische Analyse zur Genetik der menschlichen Serumparaoxonase (EC 3.1.1.2). Dissertation, Erlangen (1977).

ECKSTEIN, H.: Untersuchungen zur Genetik der menschlichen Serum-Paraoxonase an Hand von 13 Familien aus dem Raum Erlangen. Dissertation, Erlangen (1976).

ERDÖS, E.G.; BOGGS, L.E.: Hydrolysis of paraoxon in mammalian blood. *Nature* 190 (1961) 716.

FRIEDBERG K.D.; ERDMANN, W.D.: Spontane Reaktivierung der durch Alkylphosphate (Paraoxon, Systox, Isosystox) blockierten Cholinesterase in vitro. *Naunyn Schmiedebergs Arch. exp. Path. u. Pharm.* 237 (1959) 1.

FRIEDBERG, K.D.: SAKAI, F.: Spezifischer Nachweis von Vergiftungen mit Alkylphosphaten (E 600, E 605, Systox) in Blut und Hirngewebe mit Hilfe eines fermentreaktivierenden Antidots (Pyridin - Aldoxim - Methyljodid = PAM). Dtsch. Z. ges. gerichtl. Medizin 47 (1958) 580.

GEHARD, W.: Untersuchungen über die Genetik der unterschiedlichen Aktivitäten der menschlichen Serum-Paraoxonase an 18 Familien aus dem Raum Nordbayern. Dissertation, Erlangen (1976).

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M.; LINDORF, H.H.: Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serumcholinesterasen mit Alkylphosphaten. Vortrag auf der 48. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin in Berlin, 6.-9.10.1969.

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M.; RABAST, U.; LINDORF, H.H.: Unterschiedliche Reaktionen menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat). Arch. Toxikol. 25 (1969) 223.

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M.; BAUMGARTNER, W.; PÉTERNYI, M.; BURGIS, H.; LINDORF, H.H.; METZNER, H.: Korrelation zwischen der unterschiedlichen Vergiftbarkeit der Serum-Cholinesterase durch E 600 und der Aktivität des E 600 - spaltenden Enzymsystems in menschlichen Seren. Hoppe - Seyler's Z. Physiol. Chem. 353 (1972) 217.

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M.; LINDORF, H.H.; PÉTERNYI, M.; FLÜGEL, M FISCHER, T.; HILLER, T.: Genetisch determinierter Polymorphismus der menschlichen Serum-Paraoxonase. Humangenetik 17 (1973) 331.

GELDMACHER-v.MALLINCKRODT, M.; PÉTERNYI, M.; BURGIS, H.; DIETZEL, B.; METZNER, H.; NIRSCHER, H.; RENNER, O.: Zur Spezifität der menschlichen Serum-Paraoxonase. Hoppe - Seyler's Z. Physiol. Chem. 354 (1973) 337.

GOEDDE, H.W.; DOENICKE, A.; ALTLAND, K.: Pseudocholinesterasen. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1967).

HEATH, D.F.: Organophosphorus poisons. Oxford-London-New-York-Paris, Pergamon (1961).

HOMMEL, G.: Trennung von Mischverteilungen durch ein stochastisches Außenkriterium. Vortrag auf der Tagung über mathematische Methoden in der Medizin in Oberwolfach, 1.3.-5.3.1976.

KIMMERLE, G.; LORKE, D.: Die Toxikologie der insektiziden Phosphorsäureester. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 21 (1968) 111.

KRISCH, K.: Enzymatische Hydrolyse von Diäthyl-p-nitrophenylphosphat (E 600) durch menschliches Serum. Z. klin. Chem. klin. Biochem. 6 (1968) 41.

LINDORF, H.H.: Untersuchungen zur Ursache der unterschiedlichen Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600. Dissertation, Erlangen (1971).

MAIN, A.R.: The purification of the enzyme hydrolysing diethyl-p-nitrophenyl phosphate (paraoxon) in sheep serum. Biochem. J. 74 (1960) 10.

MOUNTER, L.A.; WHITTACKER, V.P.: The hydrolysis of esters of phenol by cholinesterases. Biochem. J. 54 (1953).

NEAL, R.A.: Studies on the metabolism of diethyl-4-nitrophenylphosphoro-thionate (parathion) in vitro. Biochem. J. 103 (1967) 183.

ORTLIEB, R.: Untersuchungen zur Abgrenzung der drei genetisch bedingten Aktivitätsgruppen der menschlichen Serum-Paraoxonase mit der Anti-ChE-Technik. Dissertation, Erlangen (1976).

PLAYFER, J.R.; EZE, L.C.; BULLEN, M.F.; EVANS, D.A.P.: Genetic polymorphism and interethnic variability of plasma paraoxonase activity. J. of Med. Genet. 13 (1967) 337.

ROSIVAL; VROBOVSKY; SELECKY: Toxikologia a farmakobiodynamika organofosforovych Zlucenin, Bratislava (1959). Zit. nach Kimmerle und Lorke, 1968.

SCHAUMANN, W.; SCHILLER, M.: Inaktivierung von Alkylphosphaten im Gehirn und im Serum. Arch. exptl. Pharmacol. 239 (1960) 114.

SKRINJARIC-SPOLJAR, M.; REINER, E.: Hydrolysis of diethyl-p-nitrophenylphosphate and ethyl-p-nitrophenyl-ethylphosphate by human sera. Biochem. Biophys. Acta 165 (1968) 289.

SÜLLMANN, E.: Manometrische Methoden zur Untersuchung des Gewebestoffwechsels. In: Handbuch der physiologisch- und pathol.-chem. Analyse, herausgegeben v. K. Lang und E. Lehnartz, Band VI A, Teil A, Berlin: Springer Verlag 1964.

ZÜRCHER, K.: Über die enzymatische Hydrolyse von Organophosphaten. Dissertation, Göttingen (1971).

Herrn Professor Dr. H.-B. Wuermeling danke ich für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut und die freundliche Übernahme des Korreferates.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Professor Dr. Dr. Geldmacher-v.Mallinckrodt für die Überlassung des Themas, für ihre große Hilfsbereitschaft bei allen Problemen und die jederzeit freundlich erteilten wertvollen Ratschläge.

Lebenslauf

Geboren: 14. Dezember 1950

Eltern: Emil Dietrich, Verbandsbürgermeister
Henny Dietrich, geb. Bodscheller

Schulen: 1956 - 1961 Volksschule Waldfischbach
1961 - 1970 Staatl. Leibniz-Gymnasium Pirmasens

Studium: Beginn des Studiums der Zahnmedizin an der Universität
Köln im Wintersemester 1970/71.

Beginn des Studiums der Medizin an der Universität
Köln im Sommersemester 1973.

Physikum der Zahnmedizin und Medizin im April 1974.

Fortsetzung des Studiums der Zahnmedizin und Medizin
an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-
Nürnberg im Sommersemester 1974.

Zahnmedizinisches Staatsexamen im November 1976.

Erstes Staatsexamen der Medizin im März 1977.

Zweites Staatsexamen der Medizin im März 1979.

Erlangen, im September 1979

Hans-Georg Dietrich

